



TITLE:

黒斑病甘藷の苦味質に関する研究I

AUTHOR(S):

大野, 孝; 竹内, 敏夫

CITATION:

大野, 孝 ...[et al]. 黒斑病甘藷の苦味質に関する研究I. 防虫科学 1949, 12: 26-29

ISSUE DATE:

1949-06-30

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/156555>

RIGHT:

The bitter substance, produced in black rotted sweet potato. I. Takashi OHNO, Toshio TAKEUCHI. (Takei Laboratory, Institute for Chemical Research, Ky to University and Osaka Factory of Nissin Chemical Co.) Received April 28, 1949. *Botyu-Kagaku* 12: 26—29 1949 (With English résumé p. 29)

黒斑病甘藷の苦味質に関する研究 I 大野 孝・竹内敏夫 (京都大學化學研究所武居研究室・日新化學工業株式會社大阪製造所研究部) 24, 4, 28 受理

菅て樋浦氏²⁾は黒斑病甘藷から蒸氣蒸溜によつて苦味質を分離し、この精油の割温蒸溜によつて得られるところの bp 131°/3mm の溜分を苦味質の主成分と考へ、この溜分は淡黄色の液体で流動し易く、透明で特臭を有し sesquiterpene の感觸を與へ、苦味強烈、滲透性強く、水よりも重く ether, methanol, 氷醋酸, acetone, petroleum ether, benzene, chloroform 等の有機溶媒に可溶性で水には極く少量溶け (難溶)、窒素及び硫黄を含まず、KMnO₄ 及び Br₂ を脱色し、sodium nitroprusside 反應は陽性、Schiff の試薬には陰性であり、Pd 炭を觸媒とする接觸還元によつて水素 3 mol を吸収し、又 semicarbazone が得られ、これは benzine で再結すれば mp. 131~2° の無色の結晶となり、分析値は C₁₅H₂₂O₃ の計算値に一致する、と報じ、此のものに、Ipomoea 屬から得られた苦い ketone の意味で ipomoeamarone と名づけた。此の苦味質に関しては、その特殊な生理作用に就て、他に 2, 3 の報告³⁾ があり、最近注目を集めて居て、我々はその化學構造の研究を始めた。

自然に黒斑病に罹つた甘藷では苦味質の生成量が少く又他の病菌に犯されて居る可能性もあるので、健全な甘

藷に黒斑病菌 *Ceratostomella* (*Endoconidiophora*) *f. imbricata* を生体培養して苦味質を生成せしめ、此れより蒸氣蒸溜又は ether 抽出によつて苦味質を分離した。此の兩法を比較すると、苦味質の收量に大差はないが、ether 抽出では苦味質以外の抽出物が多く、蒸氣蒸溜の方が品質良好な苦味質を得る。然し乍ら溶媒の損失及び後の甘藷の利用の点では蒸氣蒸溜が劣る様である。蒸氣蒸溜によつて得られた精油は、赤褐色の液体で、苦味、及び甘藷の香氣を有し、生甘藷 750 kg から粗精油 983 g (0.13%) であつて、 d_{4}^{15} 1.0011, n_D^{15} 1.4837, $[\alpha]_D^{15} +11.09$ である。此の精油を飽和重曹水及び 10% 苛性曹達液で處理して酸及び phenol 性物質を除き、中性赤褐色の液体 9.71 g を得た。此の中性物を減壓で 2 回分溜しその主溜分 (bp 140—144°/6 mm) が主として ipomoeamarone と考へられる。ether 抽出による場合も同様の收量で ipomoeamarone の溜分を得る。

此等の溜分が黒斑病に由來するものであるか否かを知る爲に、罹病甘藷及び健全な甘藷を同じ操作で ether 抽出を行つて苦味質の溜分の收量を比較すると Table 1 の如くなる。

Table 1. Comparison of the yields of bitter substance from diseased and sound sweet potatoes.

1 kg of dry matter	Total extract	NaHCO ₃ -soluble matter	10% NaOH-soluble matter	Neutral substance	Fraction, 138—150°/4 mm
diseased sweet potato	79.52 g.	3.17 g.	10.93 g.	48.50 g.	29.57 g.
sound sweet potato	12.36 g.	0.41 g.	4.35 g.	3.31 g.	0.00 g.

- 終始御懇篤なる御指導を賜つた武居教授並びに大野稔博士、發表を許された日新化學工業株式會社、種々の御援助を戴いた研究室の各位、御便宜を計つて戴いた合成一號公社に厚く感謝の意を表する次第である。なほ本研究は文部省科學試驗研究費により、又研究用甘藷は農林省大阪食糧事務所の御好意によるもので、全所長熊谷三郎氏に御禮申上げる。
- 樋浦：岐阜農學報告 No. 50, 1, (1943); 農學 1, 394, (1947)
- 陸獸校研究部：陸獸國報 374 1169 (1940); 安保、野村：家畜衛生協會 10, 6, (1942); 齊藤：日新醫學 31 年, No. 1, (1942); 野村、米村：綜合獸醫學雜誌 1, 5, (1944); 山下：日本醸造協會誌 9, 88, (1946); 山本、鈴木、村松：農業及園藝 22, 515, 557, (1947)

即ち此の溜分は全く黒斑病に由來することが判る。

主成分と思はれる bp 140—144°/6mm 又は 130—153°/4mm の溜分は主として ipomoeamarone であり、淡黄色の流動し易い液体で強烈な苦味と特有な香氣を有し、水に難溶、有機溶媒に可溶であつて、 d_{4}^{15} 1.0174, n_D^{15} 1.4870, $[\alpha]_D^{15} +14.07$ である。比較的不安定で、蒸溜後時と共に褐色となり易い。KMnO₄ を脱色し、Br₂ を吸収する。acetyl 化, benzoyl 化を行ふも反應せず。又 aldehyde の反應も示さないが、sodium nitroprusside 反應を示し、又 semicarbazone を與へるので ketone と考へられるが、他の ketone 試薬によつて結晶性誘導体を

得て居ない。又 methylketone の反応も示さず, ester 及び lactone の結合も有して居らない様である。

semicarbazone は mp 131—2° を示し, その分析結果は, $C_{16}H_{25}O_3N_3$ で, 樋浦氏の ipomoeamarone semicarbazone によく一致する。ether, acetone, 酒精, 醋酸, chloroform に可溶, petroleum ether 及び水に難溶である。oxalic acid と共に蒸氣蒸溜すれば直ちに ipomoeamarone を再生して溜出し, 此のものは同じ操作で同じ semicarbazone に導き得る。苦味を有する中性物質の中で semicarbazone を與へる所の ipomoeamarone は苦味質の一成分であり, 他にも苦味質が存在するかも知れないが, 先づ ipomoeamarone を研究の対象とした。然して苦味質から ipomoeamarone を純粹に単離するには結晶性の stemicarbazone とするのが好都合であり, 此の semicarbazone は1ヶ年後も融点及び分析値に變化を認めず, 安定であるので, 此の狀態に貯へて必要に應じて加水分解して ipomoeamarone に再生して研究試料とした。以下に粗 ipomoeamarone と稱するものは分溜のみによつて精製したもの, 純 ipomoeamarone と稱するものは semicarbazone から再生したものである。

純 ipomoeamarone は微黄色の流動し易い液体で, 強烈な苦味と, 特有な香氣を有し, bp. 120—123°/3 mm, semicarbazone の分析結果から $C_{16}H_{25}O_3$ に一致する。従つてその分子式及び沸点から sesquiterpene に近縁の物質である事が想像される。KMnO₄ を脱色し, Br₂ を吸収する事で不飽和結合を有する様に思はれる。3個の酸素原子の内1個は ketone 基と考へられるが methylketone の反応は陰性である。他の2個の酸素原子に関しては acetyl 化, benzoyl 化などの水酸基の反応加水分解による ester, lactone の反応, methoxyl 基の反応, が陰性であり, 従つて此等は非反應性の oxide 環を形成するものと考へられる。

實驗之部

1. 黒斑病甘藷の製造

自然に黒斑病の發生して居る甘藷を集め, 黒斑の部分から黒斑病菌の胞子を少量の水で充分洗ひ出して胞子の懸濁液を作る。次に健全な甘藷を水洗し, 四ツ切乃至八ツ切とし, 先の胞子の懸濁液に浸して甘藷の切斷面に胞子を充分附着せしめ, 引上げて20°前後の室に横置きに置いて置く。此の場合, 温度に注意して, 乾燥及び多湿を避けねばならない。數日後から切斷面に灰色に菌糸の發育を見るが約20日後には一面黒色を帯びるに到り, 甘藷の斷面の數層内部迄黒變して, 此の部分に苦味質を生ずる。かくして充分苦味質を生成した甘藷は細斷し保存の場合は風乾する。

2. 蒸氣蒸溜による苦味質の分離

生甘藷 750 kg から製造した黒斑病甘藷を 120 l 容の鐵製蒸氣蒸溜釜に10回に分けて仕込み, 蒸溜して, 合計 1, 120 l の溜液を得た。水と共に溜出する精油は比重が水のそれに近い爲に一部乳濁して居るので, 工業塩を加へて塩析しつゝ ether で抽出する。ether 溶液は芒硝で脱水後溶媒を追へば 98 g の油狀物を残す。赤褐色の液体で, 苦味及び甘藷特有の香氣を有する。

$$d_4^{20} 1.0011, \quad n_D^{20} 1.4837, \quad [\alpha]_D^{20} +11.09$$

此の油狀物を3倍容の ether に溶かし, 少量飽和重曹水で振盪する。合計 1 l を要する。次に10%苛性曹達液で振盪する。1 l を要する。飽和重曹水は淡褐色, 苛性曹達液は赤褐色を呈して居るが, 此等を硫酸 (1:3) で酸性にして ether で振盪し, ether 溶液を芒硝脱水後溶媒を回収すれば, 酸性物質を残す。飽和重曹水可溶物 (5.9 g) は黒褐色粘重な液体であり, 揮發性酸臭を有する。苛性曹達可溶物 (25.6 g) は黒褐色樹脂狀の物質で, 結晶性の固体を析出して来る。初めの ether 溶液は脱水後溶媒を追つて中性物 (954 g) を得た。中性物は赤褐色であり, 此れを Table 2. の如く分溜した。

Table 2. Fractional distillation of the neutral substance from steam-distilled essential oil.

Fraktion	b p	bath temp.	yield, g	%
1	-80°/6-7 mm	70-125°	27.3	2.9
2	69-100°/5-6 mm	119-140°	31.0	3.3
3	100-120°/5.5-6 mm	139-151°	23.7	2.5
4	120-130°/5.5-7 mm	148-156°	29.8	3.2
5	129-135°/6 mm	153-159°	25.0	2.7
6	133-150°/5-6 mm	158-178°	376.8	40.0
7	135-171°/6 mm	168-225°	173.3	18.4
8	155-158°/6-7 mm	190-221°	109.4	11.6
residue			123.5	13.1
loss			22.2	2.4
total			942.0	100.0

溜分 1, 2 は淡黄色の terpene 様物質で苦味は有しないが, 舌頭を刺す様な味がある。3 は弱い苦味があり, 又舌頭を刺す味も有し甚だ變化し易く, 次第に赤褐色となる。4, 5 は次第に強い苦味を有し, 舌頭を刺す味は無くなつて居る。6 は ipomoeamarone の苦味を有し, 主溜分と考へられる。7, 8 は苦味を有して居るが, 變化し易い後溜分を多く含み, 次第に赤褐色となつて一部結晶を溜出する。残渣は暗褐色樹脂狀で, 苦味を有しない。

5, 6, 7, 8 の溜分を合して, 今一度分溜すれば Table 3 の如くなる。

Table 3. Repeated fractional distillation of the fractions 5-8 Table 2.

Fraction	bp.	bath temp.	yield, g	%
1'	—132°/6 mm	152—154°	4.7	0.7,
2'	123—135°/6 mm	154—155°	30.5	4.5
3'	135—140°/6 mm	155—161°	72.1	10.5
4'	140—144°/6 mm	161—166°	177.0	25.9
5'	137—140°/4 mm	161—163°	177.7	26.0
6'	140—142°/4 mm	163—169°	112.4	16.4
7'	144—150°/5 mm	167—179°	49.0	7.2
8'	150— /4.5 mm	179—198°	30.5	4.5
residue			19.3	2.8
loss			11.3	1.6
total			681.5	100.0

溜分 1, 2, 3, 4, 1', 2', 3', 4', 5', 6', 7', 8' の各 1 g をとつて後述の方法で semicarbazone を作つて見ると, 3, 4, 1', 2', 3', に一部結晶を生じ, 4' がよく結晶を與へる所から 140—144°/6 mm の溜分が粗 ipomoeamarone と考へられる。此の溜分は次の様な物理恒数を有する。

$$d_4^{15} 1.0174, \quad n_D^{15} 1.4850, \quad [\alpha]_D^{15} +14.07^\circ$$

3. ether 抽出による苦味質の分離

風乾した黒斑病甘藷を粉末とし, その 1 kg (原料生甘藷 2.3 kg に相当) を大型 Soxhlet 抽出器を用ひて ether で抽出する。ether 溶液は濾過して溶媒を追ふと赤褐色の樹脂状残物 (79.52 g) を得る。此の抽出物を 3 倍量の ether に溶かし, 飽和重曹水 100 cc で 2 回, 10% 苛性曹達溶液 100 cc で 2 回振盪して酸性物質を除く。ether 溶液は 5% 硫酸 100 cc で 1 回, 飽和食塩水 100 cc で 1 回振盪後芒硝で脱水し, ether を追つて中性物質を得る。淡褐色のやや粘質な液体で, 収量は 48.50 g である。飽和重曹水及び 10% 苛性曹達溶液は硫酸々性にして ether で振盪し, 脱水乾燥後 ether を追ふと飽和重曹水可溶物 3.17 g, 10% 苛性曹達可溶物 10.93 g である。此の中性物質を減壓で蒸溜すると, 138—150°/4 mm で苦味強烈な淡黄色の液体 29.57 g を得る。又別に中性物質 38.41 g を分溜すれば Table 4 の如くである。

此の各溜分を後述の方法で semicarbazone に導くと, 4 に良質の結晶が得られ, 又 3, 5 にも油状物に混じ結晶が生ずる。従つて bp 125—130°/2 mm の溜分が粗 ipomoeamarone と考へられる。

4. 健全な甘藷の ether 抽出。

健全な甘藷を細切して風乾後粉末として, その 1 kg を前項と同じ方法で ether 抽出を行つた所, 全抽出物 12.36 g, 重曹水可溶物 0.41 g, 苛性曹達可溶物 4.35 g, 中

Table 4. Fractional distillation of the neutral substance from ether-extracted oil.

Fraction	bp	yield, g
1	—115°/2 mm	4.89
2	115—120°/2 mm	1.35
3	120—125°/2 mm	2.29
4	125—130°/2 mm	5.23
5	130—140°/2 mm	2.20
6	140—150°/2 mm	1.23
residue and loss		21.07
total		38.41

性物 3.31 g を得た。中性物は樹脂状で, 苦味無く, 先の 138—150°/4 mm に相當する溜分は全く得られない。

5. ipomoeamarone semicarbazone

塩酸 semicarbazide, 醋酸曹達及び水の 1:1.4:3 の溶液の計算量を粗 ipomoeamarone に加へ, 水の 2—2.5 倍の酒精を加へて均一な溶液とする。室温に 1 週間放置して後, 多量の水を加へれば, 溶液は白濁し, 油状物を分離して来る。更に 1 週間放置すれば油状物は次第に結晶塊となる。濾過してよく油状物と分つた後, 50% 酒精から繰返し再結すると, 葉状結晶を得る。mp 131—2° である。此の物質を 1 年放置するも, 融点及び分析値に變化を生じない。

Subst. mg.	OO ₂ mg.	H ₂ O mg	C%	H%
3.182	7.241	2.388	62.91	8.40
2.800	6.416	2.088	62.49	8.34
(after a year)				
3.970	9.088	2.888	62.43	8.14
3.780	8.663	2.813	62.50	8.33
C ₁₆ H ₂₅ O ₃ N ₃ ; M 307			62.54	8.14

Subst. mg.	N ₂ cc	N%
2.450	0.297 (27°, 751 mm)	13.63
2.384	0.288 (27°, 751 mm)	13.61
C ₁₆ H ₂₅ O ₃ N ₃ (307)		13.63

ipomoeamarone semicarbazone に半量の oxalic acid を混じ, 蒸氣蒸溜を行ふと, 直ちに semicarbazone は加水分解されて, 再生した ipomoeamarone は水と共に溜出する。溜液を食塩飽和して ether で振盪し, ether 溶液は飽和重曹水で一回洗滌後, 脱水して ether を追へば ipomoeamarone を残す。此れを減壓蒸溜すれば bp 130—131°/3 mm で純粋な ipomoeamarone を得る。再生した ipomoeamarone は同じ操作で同じ semicarbazone に導き得る。

Résumé

M. Hura has isolated the bitter substance, for the main constituent of which he has suggested the name ipomoeamarone, from black rotted sweet potato. Ipomoeamarone, $C_{15}H_{22}O_3$, has been supposed as an unsaturated ketone, bp $131^\circ/3\text{ mm}$ (semicarbazone, mp. $131-2^\circ$). Because of the characteristic physiological action (toxicity and antibiotic action) of this bitter substance we are now studying on its chemical constitution.

We isolated the bitter substance by steam distillation and ether extraction from sweet potato on which we inoculated *Ceratostomella* (*Endoconidiophora*) *fimbriata*, the fungus of black rot disease.

The essential oil, distilled with steam, has a reddishbrown color, bitter taste, and characteristic odor of sweet potato; the yield was 986 g from 750 kg of the raw sweet potato; d_4^{20} 1.0011, n_D^{20} 1.4837, $[\alpha]_D^{20} +11.00^\circ$. After the removal of the acidic substance by saturated sodium bicarbonate solution and 10% sodium hydroxide solution, the reddishbrown neutral substance (954 g) was fractionated twice under diminished pressure. (see Table 2 and 3) The main fraction, bp $140-144^\circ/6\text{ mm}$ is the crude ipomoeamarone.

By the extraction with ether, the fraction of ipomoeamarone, also, was given on about the same yield. (see Table 4)

The yields of the fraction of the bitter substance from diseased and sound sweet potatoes, are compared. (Table 1)

The main fraction bp $140-144^\circ/6\text{ mm}$, or $130-133^\circ/3\text{ mm}$, constituted mainly from ipomoeamarone, is a pale yellow, mobile liquid, have a strongly bitter taste and characteristic odor, is insoluble in water, soluble in organic solvent and have the physical constants: d_4^{12} 1.0174, n_D^{12} 1.4850, $[\alpha]_D^{12} +14.07^\circ$. The substance is altered by standing, decolorizes $KMnO_4$ and absorbs Br_2 ; acetylation and benzoylation is not succeeded. As it shows sodium nitroprusside reaction (but no aldehydic reaction) and gives crystalline semicarbazone, it is a ketone; but another crystalline derivatives are not obtained. It has not $CH_3\cdot CO\cdot$, ester and lactone combinations.

This semicarbazone, $C_{16}H_{25}O_3N_3$, mp. $131-132^\circ$ (from 50% alcohol) corresponds with the ipomoeamarone semicarbazone of M. Hura; soluble in ether, acetone, alcohol, acetic acid and chloroform, insoluble in petroleum ether and water; it regenerates free ipomoeamarone by steam distillation with oxalic acid. The same semicarbazone was prepared from the regenerated ipomoeamarone by the same method.

Crude ipomoeamarone is purified through this crystalline semicarbazone and stored in this form because it is so stable that no changes of melting point and analytical values are observed after a year.

Pure (regenerated) ipomoeamarone is a faint yellow, mobile liquid, and has strongly bitter taste and characteristic odor; bp. $130-133^\circ/3\text{ mm}$, $C_{15}H_{22}O_3$ (from the analysis of semicarbazone). We regard ipomoeamarone as the derivative of sesquiterpene. Decolorisation of $KMnO_4$ and absorption of Br_2 indicate that the molecule contains unsaturated linkage. Of the three oxygen atoms, one forms ketone (but not the methylketone). The negative reactions of hydroxyl, ester, lactone, and methoxyl show the existence of two inactive oxide rings.